



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina

Escuela Profesional de Tecnología Médica

**Frecuencia de inhibidores contra Factor VIII en
pacientes con hemofilia tipo A del Centro de Hemofilia
del “Hospital Nacional Dos de Mayo”. Lima – Perú
2015**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología
Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

AUTOR

Joselyn Pamela RIVEROS SALAZAR

ASESOR

Ricardo Mafalky RODRÍGUEZ TORRES

Nancy LOAYZA URCIA

Lima, Perú

2017



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

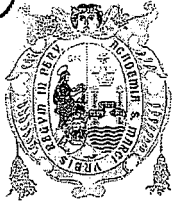
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Riveros J. Frecuencia de inhibidores contra Factor VIII en pacientes con hemofilia tipo A del Centro de Hemofilia del “Hospital Nacional Dos de Mayo”. Lima – Perú 2015. [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Tecnología Médica; 2017.

945



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA
"AÑO DEL BUEN SERVICIO AL CIUDADANO"



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

912
60

Conforme a lo estipulado en el Art. 45.2 y, Art. 100.13 de la Ley 30220. El Jurado de Sustentación de Tesis nombrado por la Directora de la Escuela Profesional de Tecnología Médica, conformado por los siguientes docentes:

Presidente: Mg. José Antonio Paredes Arrascue
Miembro : Dr. Mauro Arturo Salinas Cárdenas
Mg. Eduardo Augusto Verástegui Lara

Se reunieron en la ciudad de Lima, el día 25 de mayo de 2017, procediendo a evaluar la Sustentación de Tesis, titulado **"FRECUENCIA DE INHIBIDORES CONTRA FACTOR VIII EN PACIENTES CON HEMOFILIA TIPO A DEL CENTRO DE HEMOFILIA DEL "HOSPITAL NACIONAL DOS DE MAYO". LIMA-PERÚ 2015"** para optar el Título Profesional de Licenciada en Tecnología Médica en el Área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica de la Bachiller:

JOSELYN PAMELA RIVEROS SALAZAR

Habiendo obtenido el calificativo de:

17
(en números)

Decisiete
(en letras)

Que corresponde a la mención de: **Muy Bueno**

Quedando conforme con lo antes expuesto, se disponen a firmar la presente Acta.

Presidente
Mg. José Antonio Paredes Arrascue

Miembro
Dr. Mauro Arturo Salinas Cárdenas

Miembro
Mg. Eduardo Augusto Verástegui Lara

Asesor (a) de Tesis
Lic. Ricardo Mafalky Rodríguez Torres



**FRECUENCIA DE INHIBIDORES CONTRA FACTOR VIII
EN PACIENTES CON HEMOFILIA TIPO A DEL CENTRO
DE HEMOFILIA DEL “HOSPITAL NACIONAL DOS DE
MAYO”. Lima-Perú 2015**

AUTOR: Bach. Riveros Salazar, Joselyn Pamela

ASESOR: Lic. TM. Rodríguez Torres, Ricardo Mafalky

COASESORA: Dra. Loayza Urcia, Nancy

Dedicado

A mi madre Janet Salazar Altamirano.

A mi padre Arturo Riveros Sulca.

A mis hermanos Fiorella, Paola, Junior y Enzo.

A mi abuela Luzmila Sulca Asto.

A cada paciente con hemofilia.

Mis agradecimientos

A mis padres, Arturo y Janet, por su apoyo incondicional en los buenos y malos momentos, por sus consejos que me alentaban a seguir, por su confianza en que terminaría la tesis y por su amor.

A mis hermanos, Fiorella, Paola, Junior y Enzo; por tener tan buen ejemplo de mis hermanas mayores y darles el ejemplo a los menores, por comprender el tiempo que le dedique a mis estudios.

A mi abuelita, Luzmila, por cada mañana durante cinco años de levantarse temprano para prepararme el desayuno, por esperarme con un plato de comida cada tarde, por su constante preocupación y amor de cada día.

Al Lic. Rodriguez Torres Ricardo, por apoyarme desde el principio hasta el fin en la realización de este proyecto de investigación, por orientarme, por darme ánimos, por presionarme, por la amistad y la confianza en que lo lograríamos.

A la Dra. Nancy Loayza, por permitirme acceder a los pacientes, poder tener un espacio y comunicación con cada uno de ellos y permitirme conocer el mundo de la hemofilia, tan complejo e interesante a la vez.

A Julia y Javier, por aparecer cuando más necesitaba el apoyo para la realización del proyecto, por el tiempo dedicado y paciencia.

A Carmen y Angela por darme los instrumentos, insumos, espacio y tiempo para hacer posible el proyecto.

Por último y no menos importante, a cada paciente que participo dentro del estudio, por permitirme acceder a su mundo, conocer un poco más de cada uno de ellos y darme la confianza de contribuir a su tratamiento.

INDICE

CAPÍTULO I.....	2
INTRODUCCIÓN	2
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.2 FORMULACION DEL PROBLEMA	4
1.3 JUSTIFICACION DE LA INVESTIGACION.....	5
1.4 OBJETIVOS.....	5
<i>1.4.1 Objetivo General</i>	<i>5</i>
<i>1.4.2 Objetivos Específicos</i>	<i>6</i>
1.5 BASES TEÓRICAS	6
<i>1.5.1 Antecedentes</i>	<i>6</i>
<i>1.5.2 Base teórica.....</i>	<i>8</i>
<i>1.5.3 Definición de términos</i>	<i>20</i>
CAPITULO II.....	22
MÉTODOS.....	22
2.1 DISEÑO METODOLOGICO	23
<i>2.1.1 Tipo de investigación</i>	<i>23</i>
<i>2.1.2 Población</i>	<i>23</i>
<i>2.1.3 Muestra y muestreo</i>	<i>23</i>
<i>2.1.4 Variables</i>	<i>24</i>
<i>2.1.5 Técnica e instrumento de recolección de datos</i>	<i>24</i>
<i>2.1.6 Plan de recolección.....</i>	<i>25</i>
<i>2.1.7 Análisis estadístico de los datos.....</i>	<i>26</i>
<i>2.1.8 Validez y confiabilidad</i>	<i>27</i>
<i>2.1.9 Consideraciones éticas</i>	<i>27</i>
CAPITULO III.....	29
RESULTADOS	29
3.1 RESULTADOS	30
CAPITULO IV.....	37
DISCUCIONES.....	37
4.1 DISCUSIONES	38

CAPITULO V	41
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	41
5.1 CONCLUSIONES	42
5.2 RECOMENDACIONES	42
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	43
ANEXOS.....	49

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Distribución de pacientes con diagnóstico de Hemofilia tipo A según grupos etarios del Centro de Hemofilia del “Hospital Nacional Dos de Mayo”.

Tabla 2. Frecuencia según el grado de hemofilia tipo A en pacientes del Centro de Hemofilia del “Hospital Nacional Dos de Mayo”.

Tabla 3. Frecuencia antecedes hereditarios y no hereditarios de hemofilia A presente en pacientes del Centro de Hemofilia del “Hospital Nacional Dos de Mayo”.

Tabla 4. Características clínicas de los pacientes con hemofilia del Centro de Hemofilia del “Hospital Nacional Dos de Mayo”

Tabla 5. Frecuencia de inhibidores en pacientes con hemofilia del Centro de Hemofilia del “Hospital Nacional Dos de Mayo”

Tabla 6. Presencia de inhibidor anti FVIII según grado de hemofilia tipo A

Tabla 7. Distribución de frecuencia según los tratamientos en pacientes atendidos en el Centro de Hemofilia del “Hospital Nacional Dos de Mayo”

Tabla 8. Presencia de inhibidor anti FVIII según dosis de FVIII.

Tabla 9. Presencia de inhibidor según tratamiento recibido.

Frecuencia de inhibidores contra factor VIII en pacientes con hemofilia tipo A del Centro de Hemofilia del “Hospital Nacional Dos de Mayo”. Lima-Perú 2015.

Resumen

Introducción: La hemofilia constituye una enfermedad hemorrágica hereditaria, caracterizada por la deficiencia funcional o cuantitativa del factor VIII causante de la hemofilia A, afecta al varón con una incidencia de 1-2 casos por 10,000 varones. Clínicamente se manifiesta con episodios hemorrágicos recurrentes, de intensidad variable, especialmente en músculo y articulaciones. El desarrollo de inhibidores dirigidos al factor afectado representa la complicación más severa en el tratamiento del enfermo hemofílico. Los inhibidores son inmunoglobulinas de clase IgG4, éstas van a neutralizar la actividad procoagulante del FVIII. El desarrollo de inhibidores sucede en pacientes con hemofilia tipo A alrededor del 5% al 30%. **Objetivo:** Determinar la frecuencia de inhibidores contra el Factor VIII en pacientes con hemofilia tipo A del Centro de Hemofilia del Hospital Nacional Dos de Mayo. Lima, Perú. 2015 **Material y métodos:** Estudio observacional, descriptivo, prospectivo y de corte transversal. En el periodo que comprende de Enero a Diciembre del 2015 se captaron 60 hemofílicos tipo A a quienes se les evaluó la presencia de inhibidor anti FVIII mediante el Ensayo Bethesda – Nijmegen. **Resultados:** De los 60 pacientes hemofílicos 4 (6,7%) presentaron hemofilia leve A, 10 (16,7%) hemofilia moderada, 46 (76,7%) hemofilia severa. Se encontró 02 (3,3%) pacientes con presencia de inhibidor. Uno de ellos presentó respuesta de inhibidores con título bajo (<5.0 UB/ml) mientras que el otro paciente manifestó respuesta con título alto (> 5.0 UB/ml). **Conclusión:** El porcentaje de inhibidores 3,3% encontrado en la presente investigación es menor en comparación con la literatura encontrada en otros países, no se encontró relación estadísticamente significativa entre severidad de hemofilia y presencia de inhibidor.

Palabras Clave: Inhibidores anti FVIII, Hemofilia tipo A, Ensayo Bethesda – Nijmegen.

Frequency of inhibitors against factor VIII in patients with hemophilia type A of The Hemophilia Center of the "Hospital Nacional Dos de Mayo". Lima-Perú 2015.

Summary

Introduction: Hemophilia is a hereditary hemorrhagic disease, characterized by functional or quantitative deficiency of hemophilia A factor VIII, affecting the male with an incidence of 1-2 cases per 10 000 men. Clinically it manifests with recurrent hemorrhagic episodes, of variable intensity, especially in muscle and joints. The development of inhibitors directed to the affected factor represents the most severe complication in the treatment of the hemophilic patient. Inhibitors are IgG4 class immunoglobulins, which will neutralize the pro coagulant activity of FVIII. Development of inhibitors occurs in 5 - 30% hemophilia A. **Objective:** To determine the frequency of inhibitors against Factor VIII in patients with hemophilia type A of the Hemophilia Center of the "Hospital Nacional Dos de Mayo. Lima-Peru 2015. **Material and methods:** Observational, descriptive, prospective and cross-sectional study. In the period from January to December 2015, 60 patients with hemophilia A were screened for the presence of anti - FVIII inhibitor by the Bethesda - Neijmegen Assay. **Results:** Of the 60 patients with hemophilia A, 4 (6.7%) had mild hemophilia A, 10 (16.7%) had moderate hemophilia, 46 (76.7%) had severe hemophilia. 02 (3.3%) patients had the presence of the inhibitor. One of these patients had a low titre inhibitor response (<5.0 UB / ml) while the other patient had a high titre response (> 5.0 UB / ml). **Conclusion:** The percentage of inhibitors 3.3% found in the present investigation is lower in comparison with the literature found in other countries, there was no statistically significant relationship between hemophilia severity and inhibitor presence.

Key Words: Anti FVIII inhibitors, Hemophilia type A, Bethesda - Nijmegen test.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La hemofilia es un trastorno hemorrágico congénito vinculado al cromosoma X que se caracteriza por frecuentes episodios de sangrado que afectan particularmente a articulaciones y músculos debido a que la sangre no contiene una cantidad suficiente de factor de coagulación(1). A nivel mundial 420,000 personas padecen de hemofilia, y en América Latina el número es de 33, 082 hemofílicos(2). En Perú hay 702 personas registradas que padecen de hemofilia tipo A(3).

El tipo de hemofilia más prevalente es la hemofilia tipo A, que se caracteriza por deficiencia del Factor VIII. El tratamiento actual para los pacientes con hemofilia tipo A es el Factor VIII de la coagulación, ya que controla las hemorragias y la muerte prematura. A pesar de eso, la intolerancia del sistema inmune frente a un antígeno (en este caso FVIII) se basa en diferenciar lo propio de lo extraño, es por ello que en determinados pacientes con hemofilia esto sucede y se generan inhibidores (anticuerpos) contra el factor VIII(4).

Los inhibidores del Factor VIII son anticuerpos neutralizantes que interfieren con la cascada de la coagulación y se sospecha la presencia de estos cuando la hemorragia de un paciente no es controlada rápidamente con su dosis usual de concentrado de factor VIII, la presencia de estos inhibidores dificulta más el control de las hemorragias. En hemofilia, la mayoría de inhibidores son de “alta respuesta”; es decir, el nivel de inhibidor se eleva unos cuantos días después de la exposición al concentrado de factor VIII, si no hay mayor exposición, el nivel de inhibidor disminuye gradualmente en la mayoría de los pacientes incluso puede llegar a ser indetectables después de algunos años. Se estima que esto ocurre en un 25-35% en hemofilia A grave, en un 7-10% en hemofilia moderada y leve(4,5).

Según la encuesta global de la Federación Mundial de la Hemofilia se estima que la prevalencia de inhibidores reportada en diferentes países de Latinoamérica se encuentra entre el 11 y 19%. En el Perú aproximadamente el 10% de las personas con hemofilia que son tratadas en hospitales del MINSA o EsSalud presentan sospecha de inhibidores.

La presencia de estos inhibidores constituye la complicación más importante asociada al tratamiento de la hemofilia.

El método para la detección y cuantificación de los inhibidores esta estandarizado, se realiza mediante la prueba “Bethesda”, en la que se mezclan plasma normal con plasma del paciente, se incuba durante dos horas a 37°C y enseguida se somete a pruebas de FVIII residual. Una unidad de inhibidor (Unidad Bethesda o UB) se define como la cantidad de inhibidor que neutralizará el 50% de una unidad de factor VIII agregado(6).

La presencia de un inhibidor no incrementa la mortalidad, pero si la morbilidad y el coste de tratamiento ya que los pacientes no responden al tratamiento convencional y se tiene que utilizar agentes baipasantes como son los concentrados del complejo protrombínico activado (CCPA), FEIBA (Compuesto fundamentalmente por FII y FXa) o el FVIII activado. Ambos productos son efectivos y controlan el 80% de los episodios de sangrados(7).

Con todo lo mencionado anteriormente, el presente proyecto tiene como objetivo realizar un estudio de frecuencia de inhibidores contra el factor VIII en pacientes con hemofilia tipo A del Centro de hemofilia del Hospital Nacional Dos de Mayo en el año 2015. A su vez clasificar los pacientes con hemofilia A según la concentración de FVIII, en leve, moderada o severa; establecer la relación entre la severidad de hemofilia y la presencia de inhibidores; relacionar el número de dosis de concentración de FVIII y el título de inhibidores anti FVIII; determinar los títulos promedio de inhibidores.

1.2 FORMULACION DEL PROBLEMA

¿Cuál es la frecuencia de inhibidores contra Factor VIII en pacientes con hemofilia tipo A, Centro de Hemofilia del Hospital Nacional Dos de Mayo. Lima, Perú. 2015?

1.3 JUSTIFICACION DE LA INVESTIGACION

En países de Latinoamérica no se tiene un adecuado programa para el seguimiento de la hemofilia, debido a razones económicas el tratamiento de los pacientes con hemofilia es deficiente. Esto se hace especialmente evidente con respecto al tratamiento y diagnóstico de inhibidores.

La presencia de un inhibidor incrementa la morbilidad y el coste de tratamiento ya que los pacientes no responden al tratamiento convencional. Además las técnicas actuales disponibles de laboratorio no permiten establecer una correlación directa entre la dosis y la eficacia de estos compuestos, ni predecir sus complicaciones. Por esta razón los pacientes con altos títulos de inhibidores sufren sangrados articulares y discapacidad.

El propósito de este estudio es saber cuál es la frecuencia de aparición de inhibidores contra el Factor VIII en pacientes con hemofilia tipo A del Centro de Hemofilia del Hospital Nacional Dos de Mayo, poder contribuir en la detección temprana de los inhibidores en los pacientes y posteriormente que los pacientes puedan recibir un adecuado y oportuno tratamiento; a su vez clasificar los pacientes con hemofilia A según la concentración de FVIII, establecer la relación de severidad de hemofilia y presencia de inhibidor e identificar si el número de dosis de concentración de FVIII que reciben está asociado a la aparición de los inhibidores. Consecuentemente poder demostrar que dentro del esquema de prevención debería realizarse una medición de inhibidores, cada 6 meses, en pacientes con hemofilia tipo A.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo General

Determinar la frecuencia de inhibidores contra el Factor VIII en pacientes con hemofilia tipo A del Centro de Hemofilia del Hospital Nacional Dos de Mayo. Lima, Perú. 2015

1.4.2 Objetivos Específicos

- Clasificar los pacientes con hemofilia A según la concentración de factor VIII.
- Establecer la relación entre severidad de hemofilia y presencia de inhibidor.
- Establecer el título promedio de inhibidor anti factor VIII, en pacientes con hemofilia tipo A.
- Relacionar número de dosis de concentración de factor VIII y título de inhibidores anti factor VIII.

1.5 BASES TEÓRICAS

1.5.1 Antecedentes

C. L. Kempton y col., (2006), encontraron que la tasa global de incidencia en Estados Unidos de inhibidores contra el Factor VIII, fue de 21% de 838 casos de pacientes varones con hemofilia A, tratados con factor VIII, los pacientes que eran incluidos en la cohorte necesariamente no tenían que tener ningún inhibidor detectado antes del estudio. Ellos concluyeron que se debe realizar mayores estudios con una población mayor y realizar un seguimiento para observar si el factor VIII que el paciente consume genera algún desarrollo de inhibidores(8).

Primiani y col., (2005), determinaron la prevalencia de anticuerpos neutralizantes y no neutralizantes en personas con hemofilia en Argentina, y encontraron que la prevalencia de inhibidores es de 16.5% en pacientes con hemofilia tipo A y 2.4% en hemofilia tipo B. El método Bethesda se empleó para la cuantificación de los inhibidores. Se concluyó que deberían seguir evaluando con mayor frecuencia estos inhibidores debido al alto riesgo de desarrollarlos en el futuro(9).

Judith Bimanis y col, (2012), los resultados del presente estudio en una población venezolana mostraron que existió mayor prevalencia de hemofilia A severa (53,7%) seguido del grado leve (34,2%) y el moderado (12,2%). De los pacientes estudiados 27 presentaron inhibidor anti VIII y de este grupo 92,6% eran de baja respuesta, detectándose con mayor frecuencia en casos con hemofilia severa (36,6%)(10).

Aparecida Ferreira, Adriana y col, (2014) nos informan que la presencia de inhibidores contra el FVIII infundido es la mayor complicación relacionado con el tratamiento de hemofilia A. De la población brasileira estudiada (6,835), 7,5% presentaba inhibidores y en el 50,9% de los casos eran inhibidores de alta respuesta. Aunque se ha reportado que el 25.1% de pacientes no han sido analizados o no tienen sus datos registrados. En los estados de Brasil, Amapá, Mato Grosso do Sul and Sergipe, más del 90% de pacientes no tienen un registros de haberse realizado el test para la detección de inhibidores(11).

Ministerio de Salud Chile, “Guía Clínica Hemofilia”, (2013) presentan una frecuencia de 799 personas con hemofilia tipo A en su población, hasta la fecha sugieren que los factores de riesgo que influye en el desarrollo de inhibidores son endógenos como grandes mutaciones genéticas; raza, más frecuente en negros y latinos; antecedentes familiares; severidad en la hemofilia y factores exógenos como intensidad en dosis de factor VIII y frecuencia de las primeras exposiciones de factor VIII (13).

Duncan y col., (2013), El método original Bethesda fue desarrollado para homogeneizar la medición de los inhibidores en un ensayo de neutralización de factor VIII. Una unidad Bethesda se define como la cantidad de inhibidor que da como resultado 50% FVIII residual: la actividad C de una mezcla de ensayo definido. En la modificación de Nijmegen del método original de Bethesda, el pH y la concentración de proteína de la mezcla de ensayo es más estandarizado. Como resultado, el FVIII: C en la mezcla de ensayo es menos propenso a deterioro y la prueba ha mejorado la especificidad. Incluso con un procedimiento estandarizado una serie de factores que pueden afectar el rendimiento de la prueba y es importante que el personal de laboratorio a ser conscientes de su impacto en el resultado(14).

C. L. Kempton y col., (2010), evaluaron los factores de riesgo para el desarrollo de inhibidores en pacientes con hemofilia leve y moderada, tomaron como factores la edad y el tiempo de exposición. Encontraron que el desarrollo de inhibidores está más relacionado con la edad, hallaron que en personas mayores de 30 años hubo un desarrollo mayor de estos inhibidores que en las personas menores de 30 años y no hubo una relación significativa con el tiempo de exposición(16).

1.5.2 Base teórica

Hemofilia

La hemofilia es un trastorno hemorrágico de origen genético, recesivo y ligado al cromosoma X, en el cual se encuentran los genes que codifican los factores hemostáticos VIII y IX. Algunas alteraciones estructurales o moleculares de dichos genes condicionan una deficiencia cuantitativa y funcional del factor VIII en la hemofilia A, llamada también «hemofilia clásica», y del factor IX en la hemofilia B o «enfermedad de Christmas»(7,17).

La hemofilia tiene una frecuencia estimada de 1 caso por cada 10.000 nacimientos. Según las estimaciones de encuestas mundiales realizadas por la Federación Mundial de Hemofilia (FMH) cada año, la cantidad de personas con hemofilia en el mundo es de aproximadamente 400.000 individuos(18,19).

La hemofilia A representa entre el 80 al 85% de las personas con hemofilia. Por lo general, la hemofilia afecta a los hijos varones del lado materno, en cambio las hijas son portadoras del gen afectado. No obstante, los genes del FVIII son proclives a nuevas mutaciones y 1/3 de los casos surgen como consecuencia de mutaciones espontaneas cuando no existen antecedentes familiares(7,20,21).

Herencia y alteración genética

La hemofilia es causada por una alteración o cambio en uno de los genes, que proporciona instrucciones para la fabricación de las proteínas del factor de coagulación, que son necesarias para la coagulación, por lo tanto las alteraciones que afectan al F.VIII:C producen hemofilia A o clásica(23,24).

El gen que codifica al factor VIII se localiza en el extremo del brazo largo del cromosoma X (q28), tiene una longitud de 186 Kb (186,000 bases) y la información para el FVIII se localiza en 26 exones.

Algún cambio o mutación en el gen pueden evitar que la proteína de coagulación no funcione correctamente o que se pierda por completo. Las alteraciones cromosómicas son generalmente mutaciones puntuales en 46% de los casos, rearrreglos (inversiones) en 42%, deleciones en 8%, y mutaciones no identificadas en 4%(19).

Clasificación

La deficiencia del factor VIII de la coagulación se clasifica en base a la intensidad del factor deficiente, esto es determinado por el método funcional coagulométrico, clasificándolo según la gravedad de las hemorragias en leve, moderada y severa(27,28).

Cuadro 1: Relación entre la gravedad de las hemorragias y el nivel del factor de la coagulación.

GRAVEDAD	NIVEL DE FACTOR DE COAGULACIÓN
Severa	< 1 UI/dl (< 0,01 UI/ml) o < 1 % del valor normal
Moderada	1 a 5 UI/dl (0,01 a 0,05 UI/ml) o 1 a 5% del valor normal
Leve	5 a 40 UI/dl (0,05 a 0,40 UI/ml) o 5 a <40% del valor normal

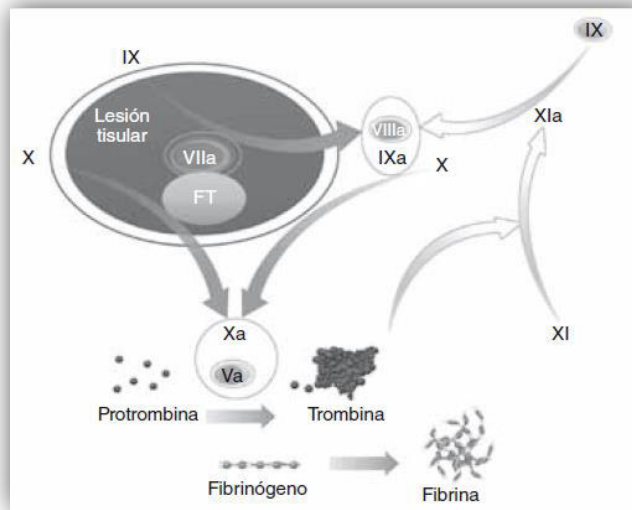
Fuente: Federación mundial de hemofilia (FMH)

Fisiopatología de la enfermedad

La generación de trombina es un evento fisiológico de alto valor biológico, ya que esta enzima forma parte del complejo molecular que forma el coágulo luego de la lesión. El factor VIII en la fase fluida de la hemostasia funciona como catalizador enzimático que acelera en varias órdenes de magnitud las reacciones que culminan en la generación de trombina (Figura 1)(29).

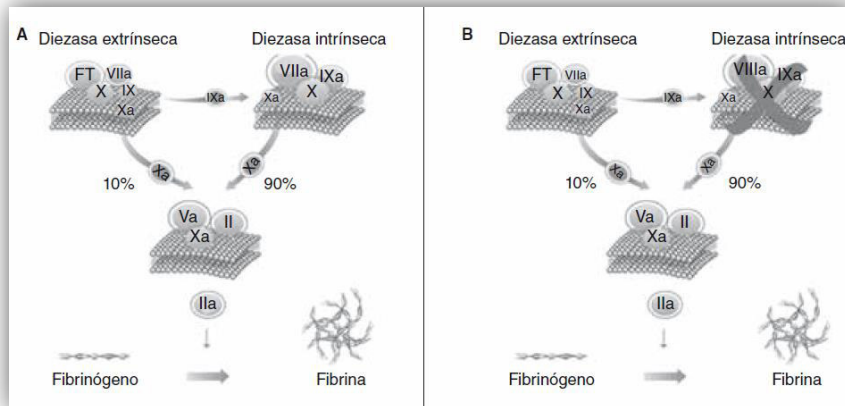
El FIXa se une al FVIIIa en un ambiente lipídico rico en factor tisular (FT) y forma un complejo llamado «diezasa intrínseca», el cual genera trombina con una eficiencia 10^6 veces mayor que la de los FVIII y FIX por separado. Este complejo también supera a la «diezasa extrínseca» rica en FVIIa, en un orden de 50 veces, para activar al FX. En términos netos la diezasa intrínseca produce 90% de la trombina generada ante cualquier daño tisular (Figura 2). Esto explica porque la ausencia del FVIII se traduce clínicamente en las manifestaciones hemorrágicas característica del hemofílico. La trombina convierte al fibrinógeno (soluble) en fibrina (insoluble), propiedad que permite la acción inicial puramente mecánica en la hemostasia, pero la fisiología de la trombina es mucho más compleja, ya que se trata de una enzima potente y con efectos inclusive antagónicos y altamente organizados, los cuales permiten mantener el equilibrio hemostático y fibrinolítico además de promover la cicatrización y controlar la velocidad, amplitud y autolimitación de la actividad enzimática. Esta capacidad de magnificar, controlar y mantener la generación de trombina según los requerimientos fisiológicos no la pueden alcanzar los pacientes hemofílicos debido a la ausencia del FVIII(23).

Figura 1: Fase fluida de la hemostasia.



Fuente: García Chávez, J. “Actualización en hemofilia” (2013)

**Figura 2: A: Activación normal de los complejos diezasa extrínseca e intrínseca.
B: Defecto del complejo diezasa intrínseca en la hemofilia.**



Fuente: García Chávez, J. “Actualización en hemofilia” (2013)

Síntomas

El paciente hemofílico manifiesta la enfermedad a partir del primer año de edad. Los síntomas son hemorragias (después de lesiones), hematomas y hemartrosis. La intensidad de la hemorragia va en relación directa del nivel circulante del factor deficiente y de la magnitud del traumatismo o factor desencadenante por ello, las personas hemofílicas con < 1 UI/dL del factor deficiente presentan hemorragias más intensas.

Cuadro 2: Incidencia aproximada de las hemorragias según localización.

LOCALIZACIÓN DE LA HEMORRAGIA	INCIDENCIA APROXIMADA
Hemartrosis <ul style="list-style-type: none">▪ más frecuente en de las articulaciones en bisagra: tobillos, rodillas y codos▪ menos frecuente en las articulaciones esféricas: hombros, muñecas, cadera	70% a 80%
Músculos	10% a 20%
Otras hemorragias importantes	5% a 10%
Sistema nervioso central (SNC)	<5%

Fuente: Federación mundial de hemofilia (FMH)

Diagnóstico

Los aspectos clave para el diagnóstico en pacientes con hemofilia son: la historia clínica con énfasis en los antecedentes heredofamiliares, el patrón de herencia, la semiología de la hemorragia, la exploración física y los exámenes de laboratorio, tanto de escrutinio como confirmatorios.

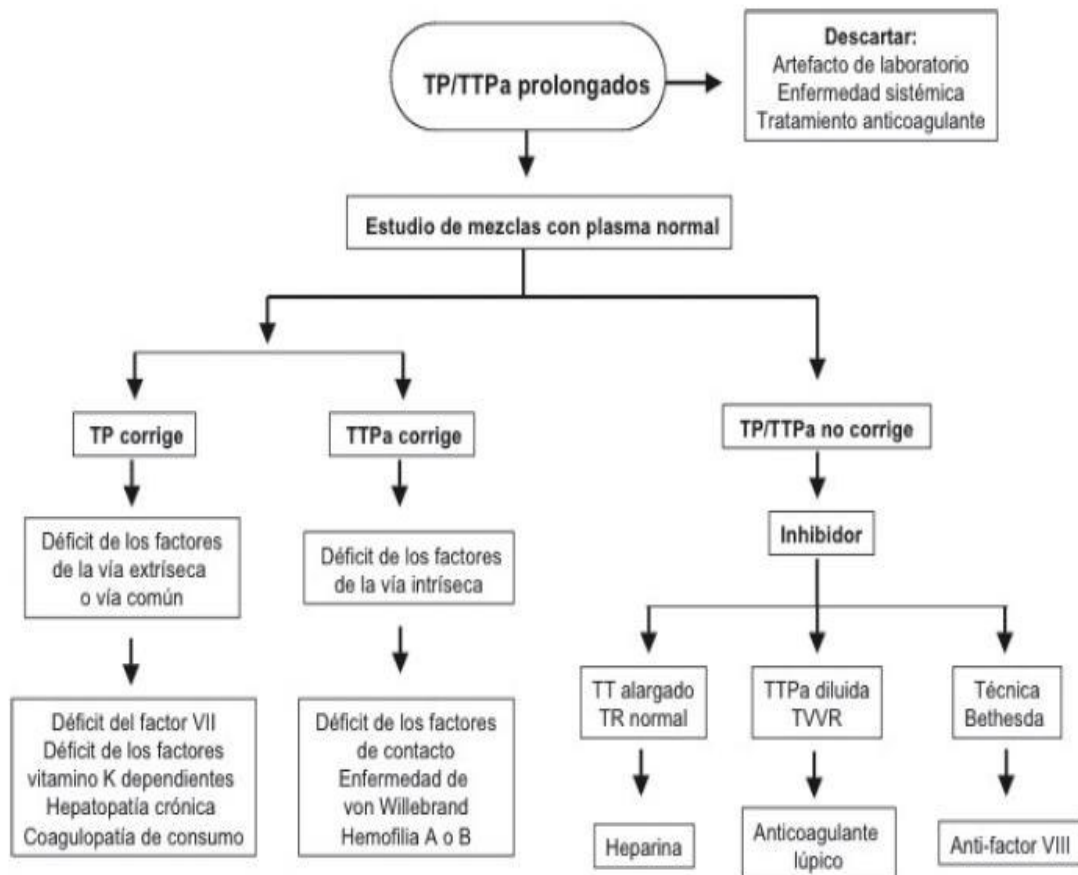
Si el antecedente familiar o cuadro clínico hacen sospechar de hemofilia, el diagnóstico se establece por los estudios de laboratorio, como la biometría hemática, frotis de sangre periférica y coagulograma básico: tiempo de protrombina (TP), tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa), Tiempo de trombina (TT), tiempo de hemorragia (TH) y Fibrinógeno. La prueba que mejor refleja la acción del FVIII es el TTPa. En un paciente con hemofilia, el TTPa está prolongado y el resto de los

parámetros permanecen normales. La prueba de TTPa consiste en un análisis no específico de la vía intrínseca (Figura 3).

En la medición del TTPa, tenemos que tener en cuenta el tratamiento de los pacientes con heparina, porque este anticoagulante prolonga el TTPa. Por ello es importante descartar la posibilidad de que estos tratamientos no hayan sido empleados antes de medir el TTPa. Si el alargamiento del TTPa es significativo se puede inferir que existe un nivel de FVIII:C menor a 50 UI/dL con sospecha de hemofilia A. Para determinar que se trata de la deficiencia de factores de la coagulación, se procede a realizar correcciones del TTPa prolongado, mediante la prueba de mezcla. Si el TTPa se corrige a su valor normal, indica que el plasma normal adicionado aportó el factor deficiente; pero si no corrige se sospecha de la presencia de un inhibidor dirigido contra el FVIII en el caso de la hemofilia A. Para descartar la presencia de otro inhibidor (Anti Factor Lúpico) se recomienda realizar una corrección de plasma, que consiste en una mezcla del plasma del paciente con un plasma normal, ambos incubados por 1-2 horas a 37°C (32).

Orientado el diagnóstico a hemofilia se procede a la cuantificación del FVIII: C, la determinación de factores será necesaria para diagnosticar y monitorear el tratamiento al paciente con sospecha de hemofilia. Los ensayos de una etapa basados en el TTPa son las técnicas más comunes, en la cual se utiliza un plasma deficiente en FVIII (<1 UI/dL) y presentar valores normales de los otros factores de coagulación. El plasma de referencia, ya sea de origen comercial o preparación in house, debe ser estandarizado(32). Es indispensable medir también el título del inhibidor contra el FVIII, que se lleva a cabo por el método Nijmegen.

Figura 3: Esquema de valoración práctica de la prolongación del tiempo de protrombina (TP) y el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa). TT: tiempo de trombina; TR: tiempo de reptilasa, TVVR: tiempo del veneno de víbora de Russell.



Fuente: “Interpretación práctica de la prolongación del tiempo de protrombina y del tiempo de Tromboplastina parcial activada”, E. Arellano (2012).

Tratamiento

El tratamiento del paciente con hemofilia es multidisciplinario, una vez establecido el diagnóstico del paciente, se procede a efectuar un programa educativo a la familia y al paciente, con el objeto de orientar y educar sobre las medidas necesarias para prevenir las hemorragias, tratar oportunamente las hemorragias, limitar las complicaciones inmediatas y evitar complicaciones mortales o discapacitantes. El estándar de oro para el

manejo actual de la hemofilia se basa en la reposición del factor faltante, de preferencia en su formato profiláctico, o en su defecto como tratamiento oportuno a demanda; este último consiste en la infusión a la brevedad del factor hemostático deficiente en dosis óptima y suficiente de acuerdo con la gravedad de la lesión. Los concentrados de FVIII es el tratamiento de elección para la hemofilia A (2). El concentrado de FVIII se presenta en dosis que van aproximadamente de 250 hasta 3000 unidades cada uno. El tratamiento terapéutico para pacientes con hemofilia A, que tienen ausencia de inhibidores, se les infunde por vía intravenosa cada unidad de FVIII por kilogramo de peso corporal que elevará el nivel plasmático de FVIII alrededor de 2 UI/dl. La dosis que se infundirá al paciente se calcula multiplicando el peso en kilogramos del paciente por el aumento deseado del nivel de factor en UI/dl, multiplicado por 0,5 con una vida media de 8 a 12 horas. La FMH apoya el uso de concentrados de factor de coagulación en lugar de crioprecipitado o plasma fresco por razones de calidad y seguridad(7).

Inhibidores

Los anticuerpos son proteínas producidas por el organismo en respuesta a la exposición de estructuras extrañas conocidas como antígenos. Los anticuerpos son increíblemente diversos y específicos, y son los principales mediadores de la inmunidad humoral.

Un inhibidor es un tipo de anticuerpo, el organismo de una persona con Hemofilia A puede crear anticuerpos dirigidos contra el Factor VIII, después de la administración del tratamiento para reemplazar el factor deficiente. El 25% de las personas que presentan inhibidores lo hacen dentro de las primeras 75 exposiciones a los concentrados de factor, siendo el momento de mayor riesgo el periodo entre los primeros 10 y 20 tratamientos(33). Esta complicación se presenta con mayor frecuencia en pacientes con hemofilia grave. En pacientes con hemofilia A, el anticuerpo se adhiere al Factor VIII y neutraliza o inhibe su capacidad para detener una hemorragia(34). En general, las características de un inhibidor pueden variar con el tiempo y, en algunas ocasiones, los inhibidores han demostrado ser transitorios; es decir, desaparecen espontáneamente en unas cuantas semanas o meses, sin inmunotratamiento(35).

Etiología y Fisiopatología de los inhibidores

Los factores que influyen en el desarrollo de inhibidores se clasifican en genéticos y no genéticos (Cuadro3). En relación con la etiopatogenia, se han implicado factores genéticos, fundamentalmente relacionados con el tipo de alteración genética que condiciona para la hemofilia, el sistema Antígeno Humano Leucocitario (HLA) y el tipo de factor utilizado en la terapéutica sustitutiva(36). El papel desempeñado por el sistema inmune a la hora de desarrollar anticuerpos es fundamental, no sólo por regular los fenómenos de tolerancia inmune frente al Factor VIII, sino por conformar la maquinaria efectora del organismo deficiente de factor frente a la administración exógena de proteína. Este mecanismo se inicia desde las células presentadoras de antígeno (CPA) que interactúa con los linfocitos T, y estos a su vez con los linfocitos B. Estos últimos han unido y endocitado los antígenos proteico, y posteriormente presentan los péptidos derivados de este antígeno a los linfocitos T cooperadores, y a la vez estos estimulan a los linfocitos B para que sinteticen anticuerpos frente a esa proteína. Estos anticuerpos inhibitorios frente al factor VIII son de características policlonales, generalmente IgG4 y en algunos casos IgG1(37).

Cuadro 3: Factores de riesgo de desarrollo de inhibidores frente al FVIII

Factores genéticos	Factores no genéticos
<ul style="list-style-type: none">• Tipo de mutación del gen del FVIII• Polimorfismos del FVIII• CMH-II• Historia familiar de inhibidores• Etnia• Polimorfismos genéticos en los reguladores de inmunoglobulinas:<ul style="list-style-type: none">– Interleucina 10 (IL-10)– TNF-alfa– CTLA-4	<ul style="list-style-type: none">• Edad en la primera exposición al factor• Tiempo (días) de exposición al factor• Traumas/cirugías• Infecciones• Procesos inflamatorios• Vacunaciones• Tipo de concentrado• Régimen de tratamiento• Modo de administración del factor

Fuente: “Recomendaciones sobre inmunotolerancia en hemofilia”. Villar A, Alonso (2010)

Diagnóstico de Inhibidores

En la actualidad, el ensayo a menudo se realiza usando Ensayo Bethesda modificación Nijmegen, para mejorar la precisión de la prueba. La cantidad de anticuerpos puede medirse utilizando esta prueba y se reporta como una cifra en unidades Bethesda o como un título Bethesda. Entre más alto sea el número de unidades Bethesda, más inhibidores se encontrarán presentes(38).

Ensayo Bethesda:

Si agregamos factor VIII a un plasma que contiene inhibidor y se incuba la mezcla, el factor VIII se irá neutralizando en forma progresiva. Si la cantidad de factor VIII y el periodo de incubación se estandarizan, la fuerza del inhibidor se puede definir en unidades de acuerdo con la cantidad de factor VIII agregado que se ha neutralizado. El ensayo se puede realizar usando factor VIII humano, en este caso se sospecharía de la presencia de un inhibidor si se produce una disminución de la vida media y la recuperación del factor VIII(39).

Se preparará un control y una mezcla de plasma normal de factor VIII y plasma del paciente, si existe información previa relacionada con el título del inhibidor previsto, se preparará diluciones a la muestra del paciente. Se incubará a 37°C durante dos horas, luego se realizara el ensayo de factor VIII en todas las mezclas de incubación, utilizando el plasma control fijado como estándar.

Para calcular el inhibidor se elige la dilución de plasma de prueba que da un factor VIII residual lo más cercano al 50%. Para calcular el nivel del inhibidor no se debe utilizar ningún factor VIII residual <25% o >75%. Se proseguirá a graficar en una hoja para escalas logarítmicas dobles el porcentaje de factor VIII residual versus las unidades de inhibidores(40).

Cuando se detecta un anticuerpo, por lo general se clasifica como de alta o baja respuesta, dependiendo de la forma en la que estimule al sistema inmune de una persona

después de repetidas exposiciones al factor VIII, se considerará un título alto cuando sea > 5.0 UB/ml, de título bajo < 5.0 UB/ml y negativo < 0.6 UB/ml .

Tratamiento frente a inhibidores

El tratamiento de las hemorragias hemofílicas en una persona con inhibidores puede resultar una ardua experiencia. En personas con inhibidores de baja respuesta y bajos títulos Bethesda, con frecuencia puede administrarse terapia con productos de reemplazo de Factor VIII. En estos casos, por lo general hay un buen control de hemorragias, tanto de las leves como de las más graves, aunque podrían requerirse dosis más altas de factor y/o infusiones más frecuentes para superar el anticuerpo. En cambio en personas con inhibidores de alta respuesta se utiliza factor VII activado recombinado (rFVIIa) y el concentrado de complejo de protrombina activado, que constituyen los agentes preferidos para el sangrado leve y moderado de alta respuesta. El factor VIIa recombinante no genera respuesta anamnésica de los títulos del inhibidor contra el FVIII, tiene menor riesgo de trombosis y se evita el riesgo de emplear un producto de otra especie. No obstante, cuando los títulos Bethesda reflejan una gran cantidad de anticuerpos en el sistema y se presenta una hemorragia que pone peligro la vida, gran parte de los anticuerpos pueden eliminarse del organismo mediante un proceso llamado recambio plasmático o adsorción inmune, este procedimiento consiste en eliminar los inhibidores del torrente sanguíneo del paciente. Ésta es solo una medida temporal, puesto que la administración del factor estimulará al cuerpo para producir grandes cantidades de nuevos anticuerpos en los días subsecuentes(41).

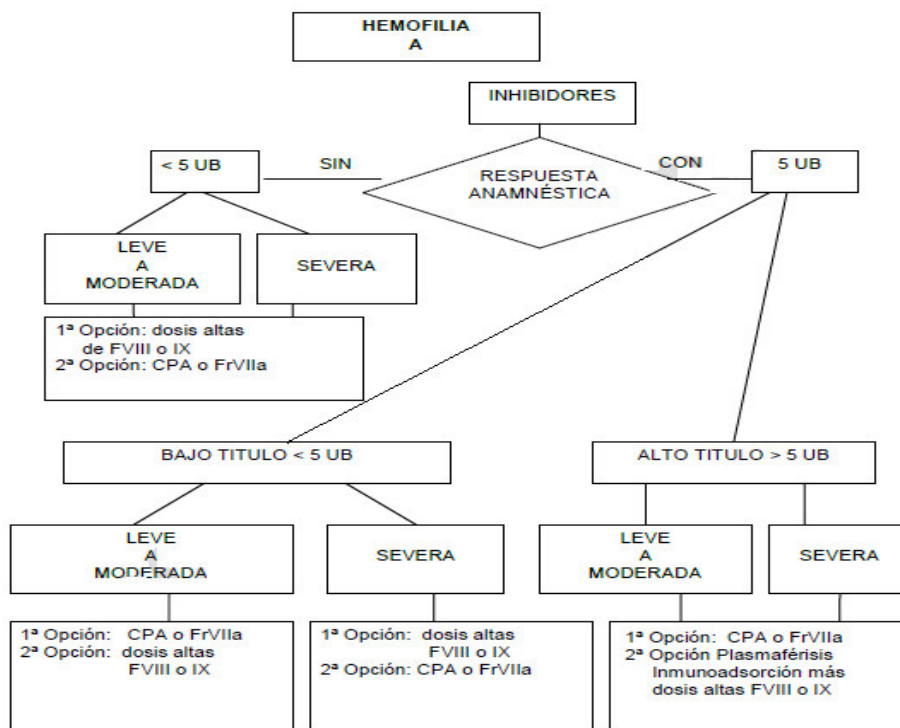
Aunque existen varias opciones terapéuticas para las hemorragias hemofílicas en personas con inhibidores, la erradicación del inhibidor es el mejor tratamiento. El único método actualmente disponible para lograrlo es un proceso llamado Inmunotolerancia(42).

La inducción a la tolerancia inmune (ITI) comprende la administración periódica de dosis variables de factor VIII, durante un periodo de semanas hasta años, es un esfuerzo hacer que el sistema inmune tolere el factor VIII; es decir, acondicionar al sistema

inmune para que acepte mejor el tratamiento con el factor de coagulación deficiente sin producir más anticuerpos.

La ITI es eficaz en 70-85% de los casos de inhibidores del factor VIII, la ITI exitosa se define tanto por la ausencia de anticuerpos residuales (un título Bethesda negativo), como por un retorno a la farmacocinética normal del factor (comportamiento normal del factor en el cuerpo). Aunque ya han pasado más de 30 años desde la primera experiencia en la inducción de inmunotolerancia de Bonn (Alemania), el mecanismo de acción de la ITI aún no se ha esclarecido completamente, se requiere de más estudios ya que en la actualidad solo se actúa sobre experiencias y resultados empíricos muy poco estandarizados en el ámbito mundial(43).

Figura 3: Algoritmo tratamiento de episodios hemorrágicos en pacientes hemofílicos con inhibidores



Fuente: “Guía Clínica Hemofilia”, Ministerio de Salud Chile (2013)

1.5.3 Definición de términos

- 1 **Hemofilia:** Enfermedad hereditaria que se caracteriza por un defecto de la coagulación de la sangre debido a la falta de uno de los factores que intervienen en ella y que se manifiesta por una persistencia de las hemorragias.
2. **Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPa):** Este ensayo mide la eficacia de las vías «intrínseca» y «común» de la coagulación, la cual implica a los factores V, VII y X.
3. **Factor VIII:** Es una glicoproteína contenida en el plasma sanguíneo que actúa como uno de los cofactores de la cascada de la coagulación.
4. **Inhibidor contra FVIII:** Auto anticuerpo específico dirigido contra el FVIII. Es de clase IgG4.
5. **Ensayo Bethesda-Nijmegen:** Esta prueba puede determinar la fuerza (título) del inhibidor en Unidades Bethesda (UB).
6. **Unidades Bethesda (UB):** La actividad de los inhibidores se mide en UB. Una Unidad Bethesda es la actividad de un inhibidor capaz de neutralizar 0.5 unidades de factor VIII.
7. **Corrección de Plasma:** Consiste en una mezcla 1: 1 entre el plasma del paciente y plasma normal, y se repite el test alterado del TTPa.
8. **Plasma fresco congelado:** Es el componente procedente de una unidad de sangre total, aislado y congelado con la suficiente rapidez después de la donación de sangre, en la cual se mantiene la actividad de los factores de coagulación en un 70%.
9. **Crioprecipitado:** El crioprecipitado consiste en el precipitado proteínico recogido de una unidad de plasma fresco congelado después de las condiciones apropiadas de temperatura. Contiene factor VIII, factor VIII-Von Willebrand, fibrinógeno, factor XIII y fibronectina.
10. **ECAT:** European Concerted Action on Thrombophilia Foundation.
11. **NEQAS:** UK National External Quality Assessment Scheme.
12. **ISTH:** Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia.

CAPITULO II

MÉTODOS

2.1 DISEÑO METODOLÓGICO

2.1.1 Tipo de investigación

Estudio observacional, descriptivo, prospectivo y de corte transversal

2.1.2 Población

La población de estudio estará conformada por los pacientes con diagnóstico de Hemofilia Tipo A, quienes se obtendrá muestras sanguíneas para el estudio de anticuerpos anti factor VIII, registrados en el Centro de Hemofilia del Hospital Nacional Dos de Mayo durante el periodo de estudio.

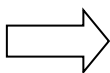
2.1.3 Muestra y muestreo

El tipo de muestreo es No Probabilístico por conveniencia. Según los datos del Centro de Hemofilia del Hospital Nacional Dos de Mayo para el año 2014 se tenía registrado a 100 pacientes diagnosticados con hemofilia tipo A, de los cuales a 10 pacientes se les evidenció inhibidores, lo que equivale a una frecuencia de 10% para presencia de inhibidores (datos no publicados). Basado en estos datos el estimado para detectar presencia de inhibidores en el presente estudio sería:

$$n = \frac{N * z^2 * p * q}{d^2 * (N - 1) + z^2 * p * q}$$

N: total de aislamientos; z: nivel de confianza; p: frecuencia esperada; d: precisión o error, q: (1-p).

- N = 585
- Z = 1.96
- p = 0.10
- q = 1-p
- d = 0.05



$$n = \frac{585 * (1.96)^2 * 0.10 * (1 - 0.10)}{(0.05)^2 * (585 - 1) + (1.96)^2 * 0.10 * (1 - 0.10)}$$

n = 112 ~ 112 Pacientes con hemofilia tipo A

2.1.3.1 Criterios de inclusión

- Todos los pacientes con diagnóstico de Hemofilia Tipo A que estén registrados en el programa de Hemofilia del Hospital Nacional Dos de Mayo.

2.1.3.2 Criterios de exclusión

- Muestras que presenten coágulo.
- Relación inadecuada de muestra-anticoagulante.
- Muestras lipémicas, ictericas y/o hemolizadas.
- Pacientes a quienes se administró factor VIII, dentro de las últimas 24 horas, previas a la toma de muestra .

2.1.4 Variables

Variable dependiente

Frecuencia de Inhibidores contra el Factor VIII

Variable independiente

Pacientes con diagnóstico de hemofilia tipo A

2.1.5 Técnica e instrumento de recolección de datos

La técnica para determinar la frecuencia de inhibidores contra Factor VIII en pacientes con hemofilia tipo A se realizó mediante la extracción sanguínea de los pacientes con diagnóstico de hemofilia tipo A del HNDM. La información recolectada de los pacientes, como edad, sexo, grado de hemofilia, tipo de factor VIII usado, tiempo de exposición al factor VIII y otros datos de relevancia fue registrada en la ficha de recolección de datos (ANEXO N° 2). Posteriormente se evaluó si hay presencia o no de inhibidores contra Factor VIII mediante el Método Bethesda-Nijmegen, que nos permitió saber de forma cuantitativa si los inhibidores contra Factor VIII están presentes, también fue anotado en dicha ficha.

2.1.6 Plan de recolección

Coordinación administrativa

El estudio se realizó solicitando el permiso al Hospital Nacional Dos de Mayo, así como a la Jefe del Laboratorio Central del HNDM.

Coordinación con el paciente

El médico tratante de cada paciente estableció la fecha y hora para la cita de toma de muestra. Se coordinó varias fechas para reunir a los pacientes en grupos de 20 para llevar a cabo la charla informativa y la firma del consentimiento informado.

Obtención y procesamiento de muestra

Se extrajo una muestra de sangre en tubo con anticoagulante citrato de sodio al 3.2%, a cada paciente a través de punción venosa. Posteriormente se centrifugó por 15 minutos a 3500 rpm, para realizar 2 alícuotas del plasma en microviales y se almacenó a -20 °C, la primera alícuota se utilizó para la determinación de Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPa) y corrección de plasma, la segunda para la realización del ensayo Bethesda.

Ensayo de unidades Bethesda-Nijmegen

Paso 1. Determinación del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPa):

Se realizó la determinación del TTPa mediante el equipo automatizado BCS[®] XP System de SIEMENS (ANEXO N° 3).

Interpretación de resultados: Valores de referencia del TTPa: 37.3 ± 10 seg.

Paso 2. Prueba de mezclas

Se realizó la prueba de mezclas con un Plasma Normal (PN) y Plasma del Paciente (Muestra problema).

Paso3. Corrección de Plasma:

Se realizó la corrección de plasma, si el resultado de la prueba de mezcla resulto prolongado. Se considera que hay “Potenciación” del efecto inhibitorio tiempo-temperatura dependiente, cuando el TTPa de la mezcla incubada, se prolonga con respecto al de la mezcla inmediata. Después de reemplazar en la fórmula, encontramos > 10.0 indica presencia de inhibidor (ANEXO N° 3).

Paso 4. Ensayo Bethesda – Nijmegen: Inhibidor del Factor VIII

Cálculo del Factor Residual VIII (FRVIII)

Para calcular el inhibidor se eligió la dilución de plasma de prueba que da un factor VIII residual lo más cercano al 50% pero dentro del rango de 30% a 60%. Se graficó en una hoja para escalas logarítmicas dobles el % de factor VIII residual versus las unidades de inhibidores (ANEXO N° 3).

Interpretación de resultados

- NEGATIVO : < 0.6 UB/ml
- ALTO TÍTULO : > 5.0 UB/ml
- BAJO TÍTULO : < 5.0 UB/ml

2.1.7 Análisis estadístico de los datos

Las variables fueron analizadas por estadística descriptiva para determinar las frecuencias. La determinación de la asociación entre variables según objetivos específicos, se evaluó con la prueba Chi cuadrado con $p < 0,05$.

El análisis de datos y sus cálculos, fueron desarrollados empleando el programa estadístico IBM SPSS Statistics versión 22 y Excel 2010.

2.1.8 Validez y confiabilidad

Respecto al control de calidad en la toma de muestra, se tomó como referencia las recomendaciones de la CLSI, desde la recolección de la muestra, en la centrifugación y conservación y hasta el procesamiento. Para el método Bethesda modificado Nijmegen se tomaron las recomendaciones de la Federación Mundial de Hemofilia y la ISTH.

Se realizó el procesamiento de muestras con controles normales y patológicos para los reactivos usados.

2.1.9 Consideraciones éticas

Informe de consentimiento y ficha epidemiológica

Cada paciente firmó un consentimiento informado (ANEXO N° 1) de participación en el estudio previo a la toma de muestra. Así mismo en caso de acceder a participar en el estudio, se llenó una ficha de recolección de datos (ANEXO N° 2) para la obtención de datos clínicos de cada paciente.

CAPITULO III

RESULTADOS

3.1 RESULTADOS

La muestra evaluada estuvo conformada por 60 pacientes con diagnóstico de hemofilia tipo A; no se excluyó ningún paciente. Las edades se hallaron entre 1 a 80 años (media 19,8 y desviación estándar de 14,1); siendo el rango de edad entre 1 a 10 años, quienes alcanzaron la mayor frecuencia (31,6%), obsérvese **Tabla N° 1**.

Tabla 1. Distribución de pacientes con diagnóstico de Hemofilia tipo A según grupos etarios del Centro de Hemofilia del “Hospital Dos de Mayo”.

Rangos de edad	n	%
1 - 10	19	31,6
11 A 20	17	28,3
21 A 30	11	18,3
31 A 40	9	15
41 A 50	3	5
51 A +	1	1,6
Total	60	100%

Para clasificar a los pacientes con diagnóstico de Hemofilia A según el grado de severidad, en el estudio se realizó a través de las concentraciones de FVIII que presentó cada individuo estudiado. Se entiende como leve a concentraciones entre 5 a 40 UI; como moderado entre 1 a 5 UI y como severo < 1 UI de FVIII. Se evidencio que la mayor cantidad de pacientes atendidos en el Centro de Hemofilia del Hospital Dos de Mayo (HNDM), presentan el diagnóstico de hemofilia tipo A de grado severo, con una frecuencia de 76,7%. (**Tabla N°2**).

Tabla 2. Frecuencia según el grado de hemofilia tipo A en pacientes del Centro de Hemofilia del “Hospital Nacional Dos de Mayo”

Grado de hemofilia	n	%
Leve	4	6,7
Moderado	10	16,7
Severo	46	76,7
Total	60	100%

En la **Tabla 3** se presenta la información respecto a la manifestación de la enfermedad según sus antecedentes de hemofilia hereditaria o no hereditaria.

Tabla 3. Frecuencia antecedes hereditarios y no hereditarios de hemofilia A presente en pacientes del Centro de Hemofilia del “Hospital Nacional Dos de Mayo”.

Tipo de hemofilia	n	%
Hereditario	43	71,7
No hereditario	17	28,3

Las manifestaciones clínicas en los pacientes con hemofilia varían según el grado de hemofilia, en nuestro estudio se encontró que las hemorragias en mucosas (boca, nariz y encías), así como los hematomas son las mayores manifestaciones clínicas. Por otro lado, la articulación con mayor frecuencia en el sangrado interno es la rodilla. (**Tabla N° 4**).

Tabla 4. Características clínicas de los pacientes con hemofilia del Centro de Hemofilia del “Hospital Nacional Dos de Mayo”

Manifestaciones clínicas	n	%
Hemartrosis	48	80
Hematomas y hemorragias	53	88,3
Hemorragias externas	44	66,7
*Otras manifestaciones	9	15,0
Articulación con mayor sangrado	n	%
Rodilla	42	70
Codo	28	46,7
Tobillo	15	25
**Otras manifestaciones	7	11,7

*Hematuria, traumatismos graves, músculos y tejidos blandos

** Cadera, hombro y muñeca

Al evaluar la frecuencia de inhibidores contra el Factor VIII, en 60 pacientes analizados por el Ensayo Bethesda – Nijmegen, se determinó que en 02 (3,3%) pacientes hubo presencia del inhibidor. Uno de ellos presentó respuesta de inhibidores con título bajo (<5.0 UB/ml) mientras que el otro paciente manifestó respuesta con título alto (> 5.0 UB/ml). (Tabla N° 5).

Tabla 5. Frecuencia de inhibidores en pacientes con hemofilia del Centro de Hemofilia del “Hospital Nacional Dos de Mayo”

Presenta inhibidor	n	%	Rpta baja n (%)	Rpta alta n (%)
SI	2	3,3	1 (1,7%)	1 (1,7%)
NO	58	96,7	-	-
Total	60	100%		

Los 02 casos con presencia de inhibidores, fueron de grado severo representando el 4,3 % de todos los pacientes categorizados como severo. Al asociar la presencia del inhibidor con el grado de hemofilia, no se halló diferencias estadísticamente significativas, por lo que no existe asociación entre ambos.

Tabla 6. Presencia de inhibidor anti FVIII según grado de hemofilia tipo A

	Grado de hemofilia			Total	p valor
	Leve	Moderado	Severo		
Presenta inhibidor					
SI	0 0%	0 0%	2 4,3%	2 3,3%	0,730
NO	4 100,0%	10 100,0%	44 95,7%	58 96,7%	

Respecto a la dosis de FVIII, que cada paciente se transfunde como compensatorio a la deficiencia del mismo, el 51,7% se transfunden dosis entre 1000 a 3000 UI de FVIII (03 veces por semana).

Asimismo, el 50% de todos los casos indica haber recibido alguna vez crioprecipitado (Criop) y 61,7% refiere haber recibido plasma fresco congelado (PFC), obsérvese la **Tabla N°7**.

Tabla 7. Distribución de Frecuencia según los tratamientos en pacientes atendidos en el Centro de Hemofilia del “Hospital Nacional Dos de Mayo”

Dosis de FVIII	n	%
<1000 UI	25	41,7
1000-3000 UI	31	51,7
>3000 UI	2	3,3
Ninguno	2	3,3
Crioprecipitado		
SI	30	50
NO	30	50
Plasma fresco congelado		
SI	37	61,7
NO	23	38,3
Total	60	100%

Según la dosis de FVIII, en los pacientes que presentaron inhibidores, uno se aplica dosis < 1000 UI, mientras que el otro emplea dosis entre 1000 y 3000 UI. Por cuanto, no se encontró diferencia estadística significativa.

Tabla 8. Presencia de inhibidor anti FVIII según dosis de FVIII.

	Dosis de FVIII			Total	p valor
	<1000 UI	1000-3000 UI	>3000 UI		
Presenta inhibidor					
SI	1 3,7%	1 3,2%	0 0%	2 3,3%	0,982
NO	26 96,3%	30 96,8%	2 100,0%	58 96,7%	

Para los casos con presencia de inhibidor y haber recibido PFC y/o Criop, tampoco se encontró diferencia estadística significativa para ambos casos.

Tabla 9. Presencia de inhibidor según tratamiento recibido.

Presenta inhibidor	Plasma fresco congelado		Total	p valor
	SI	NO		
SI	2 5,4%	0 0%	2 3,3%	0,257
NO	35 94,6%	23 100,0%	58 96,7%	

Presenta inhibidor	Crioprecipitado		Total	p valor
	SI	NO		
SI	2 6,7%	0 0%	2 3,3%	0,150
NO	28 93,3%	30 100,0%	58 96,7%	

CAPITULO IV

DISCUCIONES

4.1 DISCUSIONES

Respecto a la frecuencia de distribución de pacientes según grupo etario, *Fontes y col, Brasil 2001*, mostraron que entre 11 a 20 años es el rango etario con mayor frecuencia, *Kempton et al, USA 2010*, indicaron en su estudio <30 años y Soucie y col, USA 2006 hallaron una media de 18,5 años. Contrario a lo anterior, en la presente investigación, entre 1 a 10 años se concentró la mayor cantidad de pacientes con hemofilia tipo A, por lo tanto, podríamos sugerir una investigación más exhaustiva en el grupo etario pediátrico del HNMD puesto que según *Lorenzo y col, España 2000*, las primeras exposiciones de FVIII son un riesgo para la aparición de inhibidores en los primeros años de vida.

Estudios como en *Kempton et al, USA 2010* y *Yan y col., China 2007*, han señalado que los pacientes con mayor riesgo a desarrollar inhibidores son aquellos con hemofilia severa. En este estudio, en el primer caso fue un niño de 4 años con hemofilia severa y hereditaria; en el segundo caso fue un joven de 26 años con hemofilia severa sin antecedentes familiares. Aun siendo ambos pacientes hemofílicos severos, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre la presencia de inhibidores y el grado severo de hemofilia, debido a la baja frecuencia de pacientes que presenten inhibidor anti FVIII y a su vez tampoco hubo diferencia estadísticamente significativa entre la presencia de inhibidores y antecedentes familiares.

En los pacientes diagnosticados con hemofilia tipo A de nuestro estudio, la manifestación clínica más frecuente fueron los hematomas y las hemorragias (88,3%) seguido de la hemartrosis (80%). Estos datos coinciden con lo informado por *Girolame et al, USA 2011*, en sus pacientes estudiados encontró a la hemartrosis como manifestación clínica más frecuente. No hubo diferencias estadísticamente significativas con respecto al total de pacientes en cuanto a las manifestaciones clínicas más frecuentes. Según *Soto y col, Guatemala 2010*, el 35% de su población padecía de sangrado de rodilla como articulación más frecuente de sangrado, en nuestro estudio la articulación de sangrado también fue la rodilla con un 70%.

El resultado obtenido en este estudio muestra una diferencia en la frecuencia de inhibidores encontrados a nivel internacional. Como se menciona y observa en diferentes estudios, la prevalencia de inhibidores en pacientes con hemofilia varía de 3,6% a 27% según *Oren et al.*, Turquía 1999; un estudio realizado en seis centros de hemofilia por *Wang et al.*, China 2010, se encontró que el 3,9% (n=1435 casos) presentaban inhibidores anti-FVIII; una frecuencia muy distinta encontró *Bimanis et al.*, Venezuela 2012, en 41 pacientes el 65,8% presentaban inhibidores. Así mismo en la Fundación de Hemofilia, Buenos Aires 2005, por *Primiani y col.*, el 16,5% de 510 pacientes desarrollaban inhibidores. En nuestro estudio el porcentaje de pacientes del Centro de Hemofilia del Hospital Nacional Dos de Mayo (HNDM), donde se obtuvo un título positivo de inhibidor anti VIII fue de 3,3% (n=60 casos). Sin embargo, es importante tomar en cuenta que la muestra estuvo conformada por 60 pacientes hemofílicos, sería interesante verificar la frecuencia en la totalidad de la población.

Los inhibidores son clasificados como bajo y alto respondedores, The International Society on Thrombosis and Hemostasis Scientific and Standardization ha recomendado que un título de 5 UB diferencia a un inhibidor de alta y baja respuesta. Lo más frecuente es encontrar niveles bajos de anti VIII, En estudios como *White et al.*, USA 2001 y *Bimanis et al.*, Venezuela 2012, muestran un 80 a 95% de título bajo de inhibidores. En nuestro caso, uno de los pacientes fue un niño de 4 años que presentó inhibidor de alta respuesta y el otro paciente, un joven de 26 años que presentó inhibidor de baja respuesta, lo cual indicaría en el paciente adulto que son anticuerpos transitorios o permanentes que no repercuten en su clínica o tratamiento; en cambio en el paciente pediátrico con niveles altos de anti VIII se debe a un mecanismo de memoria que se desencadena después de una dosis de FVIII.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

En conclusión, el desarrollo de un inhibidor es la complicación más significativa en el tratamiento de un paciente con hemofilia tipo A y es el resultado de complejas interacciones entre el sistema inmune de un paciente y factores de riesgo genéticos y ambientales. Es por ello que realizando este estudio queremos dar a conocer lo importante que es un diagnóstico precoz, que permita el adecuado y rápido tratamiento para un paciente con desarrollo de inhibidores. Se encontró una frecuencia de inhibidores anti FVIII en pacientes con hemofilia A en 3.2% que correspondió a 02 pacientes (n= 60). También pudimos clasificar que el 76% de los pacientes padecen de hemofilia severa, el 16,7% de hemofilia moderada y el 6,7% de hemofilia leve (n=60). Los niveles de respuesta de las dos personas que presentaron inhibidores no tuvieron una relación estadísticamente significativa a la gravedad de la hemofilia, a la dosis recibida de FVIII o el tipo de tratamiento recibido. A pesar de la baja frecuencia encontrada en este estudio, los pacientes diagnosticados con inhibidores reciben un tratamiento más adecuado y oportuno para combatir y disminuir el desarrollo de los inhibidores y poder controlar las excesivas hemorragias causadas por estos.

5.2 RECOMENDACIONES

Una de las limitaciones importantes de este estudio fue el bajo número de pacientes por diversas causas. No obstante esta es la primera investigación a nivel regional que muestra datos sobre la presencia del inhibidor anti VIII en pacientes hemofílicos, por lo que se plantea la necesidad de dar continuidad al estudio con el apoyo de instituciones encargadas de la comunidad de hemofilia como la Asociación Peruana de Hemofilia o los centros de hemofilia de cada hospital del Lima. Poder concientizar a los directivos de los principales hospitales para que se realice esta prueba dos veces al año a todos los pacientes con hemofilia A.

Otra limitación fue el método empleado, ya que el Método Bethesda modificado Nijmegen a pesar de tener buena sensibilidad y especificidad necesita ser respaldado por controles internos que disminuyan el coeficiente de variación de este método.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ¿Qué es la hemofilia? - World Federation of Hemophilia [Internet]. [citado 24 de octubre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.wfh.org/es/page.aspx?pid=932>
2. III. Propuesta de recomendaciones para el diagnóstico y tratamiento en hemofilia - gms043ar.pdf [Internet]. [citado 24 de octubre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/gaceta/gm-2004/gms043ar.pdf>
3. Asociación Peruana de la Hemofilia [Internet]. [citado 24 de octubre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://hemofiliaperu.blogspot.pe/>
4. Recomendaciones sobre Inmunotolerancia en Hemofilia [Internet]. [citado 24 de octubre de 2015]. Recuperado a partir de: <https://www.yumpu.com/es/document/view/44712329/recomendaciones-sobre-inmunotolerancia-en-hemofilia>
5. Inhibitor Primer Revised 2008_FINAL2.doc - pdf-1122.pdf [Internet]. [citado 25 de octubre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www1.wfh.org/publication/files/pdf-1122.pdf>
6. Inhibitors_SPedit.doc - pdf-1179.pdf [Internet]. [citado 25 de octubre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www1.wfh.org/publication/files/pdf-1179.pdf>
7. Guías para el tratamiento de la hemofilia - World Federation of Hemophilia [Internet]. [citado 25 de octubre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.wfh.org/es/resources/guias-para-el-tratamiento-de-la-hemofilia>
8. Kempton CL, Soucie JM, Abshire TC. Incidence of inhibitors in a cohort of 838 males with hemophilia A previously treated with factor VIII concentrates. J Thromb Haemost. 1 de diciembre de 2006;4(12):2576-81.

9. Primiani LB, Nakatsuno M, Candela M. Prevalencia de anticuerpos neutralizantes y no neutralizantes en personas con hemofilia en Argentina. Hematol B Aires. agosto de 2006;10(2):35-8.
10. Bimanis J, Rojas M, Tovar M, Vargas H. Concentración de inhibidores anti VIII en pacientes con hemofilia A que acudieron a una consulta hematológica [Internet]. Salus. 2012 [citado 25 de octubre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=375939022007>
11. Ferreira A, Leite I, Bustamante-Teixeira MT, Guerra M. Hemophilia A in Brazil & epidemiology and treatment developments. J Blood Med. 25 de septiembre de 2014;Volume 5:175-84.
12. MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD DE FACTORES VIII Y IX COAGULANTE Y SUS POSIBLES INHIBIDORES, EN UNA POBLACIÓN DE NIÑOS HEMOFÍLICOS - bqs071x.pdf [Internet]. [citado 25 de octubre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/bioquimia/bq-2007/bqs071x.pdf>
13. GUÍA CLÍNICA - articles-658_recurso_1.pdf [Internet]. [citado 25 de octubre de 2015]. Recuperado a partir de: http://www.supersalud.gob.cl/difusion/572/articles-658_recurso_1.pdf
14. Duncan E, Collecutt M, Street A. Nijmegen-Bethesda Assay to Measure Factor VIII Inhibitors. En: Monagle P, editor. Haemostasis [Internet]. Humana Press; 2013 [citado 25 de octubre de 2015]. p. 321-33. Recuperado a partir de: http://dx.doi.org/10.1007/978-1-62703-339-8_24
15. Klinge J, Auerswald G, Budde U, Klose H, Kreuz W, Lenk H, et al. Detection of all anti-factor VIII antibodies in haemophilia A patients by the Bethesda assay and a more sensitive immunoprecipitation assay. Haemoph Off J World Fed Hemoph. enero de 2001;7(1):26-32.

16. Kempton CL, Soucie JM, Miller CH, Hooper C, Escobar MA, Cohen AJ, et al. In non-severe hemophilia A the risk of inhibitor after intensive factor treatment is greater in older patients: a case-control study. *J Thromb Haemost JTH*. octubre de 2010;8(10):2224-31.
17. Franchini M, Mannucci PM. Hemophilia A in the third millennium. *Blood Rev*. julio de 2013;27(4):179-84.
18. Jeffrey S. Stonebraker. Estudio de las variaciones en los informes de prevalencia de la hemofilia alrededor del mundo. [Internet]. [citado 25 de octubre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www1.wfh.org/publication/files/pdf-1232.pdf>
19. Paisley S, Wight J, Currie E, Knight C. The management of inhibitors in haemophilia A: introduction and systematic review of current practice. *Haemoph Off J World Fed Hemoph*. julio de 2003;9(4):405-17.
20. Wight J, Paisley S. The epidemiology of inhibitors in haemophilia A: a systematic review. *Haemoph Off J World Fed Hemoph*. julio de 2003;9(4):418-35.
21. Bauer KA. Current challenges in the management of hemophilia. *Am J Manag Care*. marzo de 2015;21(6 Suppl):S112-22.
22. Gouw SC, van den Berg HM. The multifactorial etiology of inhibitor development in hemophilia: genetics and environment. *Semin Thromb Hemost*. noviembre de 2009;35(8):723-34.
23. Jaime García Chavez. Hemofilia. *Gac Médica Mex*. 2013;21:149-308.
24. Oldenburg J, El-Maarri O, Schwaab R. Inhibitor development in correlation to factor VIII genotypes. *Haemoph Off J World Fed Hemoph*. marzo de 2002;8 Suppl 2:23-9.
25. Oldenburg J, Pavlova A. Genetic risk factors for inhibitors to factors VIII and IX. *Haemoph Off J World Fed Hemoph*. diciembre de 2006;12 Suppl 6:15-22.

26. Facts | Hemophilia | NCBDDD | CDC [Internet]. [citado 1 de octubre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.cdc.gov/ncbddd/hemophilia/facts.html>
27. Diagnóstico y tratamiento del paciente con hemofilia e inhibidores. Niños y adultos en segundo y tercer nivel de atención | GPC-SNS [Internet]. [citado 9 de noviembre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://cenetec-difusion.com/gpc-sns/?p=655>
28. Cáceres W, McCurdy S. Recognition of hemophilia A in an elderly patient. Bol Asoc Médica P R. junio de 1998;90(4-6):85-7.
29. Halimeh S, Bidlingmaier C, Heller C, Gutsche S, Holzhauer S, Kenet G, et al. Risk factors for high-titer inhibitor development in children with hemophilia A: results of a cohort study. BioMed Res Int. 2013;2013:901975.
30. Karaman K, Akbayram S, Garipardıç M, Öner AF. Diagnostic evaluation of our patients with hemophilia A: 17-year experience. Türk Pediatri Arş. junio de 2015;50(2):96-101.
31. Janbain M, Leissinger CA, Kruse-Jarres R. Acquired hemophilia A: emerging treatment options. J Blood Med. 2015;6:143-50.
32. Hay CRM, Brown S, Collins PW, Keeling DM, Liesner R. The diagnosis and management of factor VIII and IX inhibitors: a guideline from the United Kingdom Haemophilia Centre Doctors Organisation. Br J Haematol. junio de 2006;133(6):591-605.
33. Hay CRM, Palmer BP, Chalmers EA, Hart DP, Liesner R, Rangarajan S, et al. The incidence of factor VIII inhibitors in severe haemophilia A following a major switch from full-length to B-domain-deleted factor VIII: a prospective cohort comparison. Haemoph Off J World Fed Hemoph. marzo de 2015;21(2):219-26.

34. Sharathkumar A, Lillicrap D, Blanchette VS, Kern M, Leggo J, Stain AM, et al. Intensive exposure to factor VIII is a risk factor for inhibitor development in mild hemophilia A. *J Thromb Haemost JTH*. junio de 2003;1(6):1228-36.
35. Buckner TW, Nielsen BI, Key NS, Ma A. Factor VIII inhibitory antibody in a patient with combined factor V/factor VIII deficiency. *Haemophilia*. 1 de enero de 2015;21(1):e77-80.
36. Hausl C, Ahmad RU, Sasgary M, Doering CB, Lollar P, Richter G, et al. High-dose factor VIII inhibits factor VIII-specific memory B cells in hemophilia A with factor VIII inhibitors. *Blood*. 15 de noviembre de 2005;106(10):3415-22.
37. Montalvão S a. L, Tucunduva AC, Siqueira LH, Sambo ALA, Medina SS, Ozelo MC. A longitudinal evaluation of anti-FVIII antibodies demonstrated IgG4 subclass is mainly correlated with high-titre inhibitor in haemophilia A patients. *Haemoph Off J World Fed Hemoph*. septiembre de 2015;21(5):686-92.
38. de Lima Montalvão SA, Tucunduva AC, de Almeida Sambo AL, De Paula EV, de Souza Medina S, Ozelo MC. Heat treatment of samples improve the performance of the Nijmegen-Bethesda assay in hemophilia A patients undergoing immune tolerance induction. *Thromb Res*. 28 de agosto de 2015;
39. Miller CH, Platt SJ, Rice AS, Kelly F, Soucie JM, Hemophilia Inhibitor Research Study Investigators. Validation of Nijmegen-Bethesda assay modifications to allow inhibitor measurement during replacement therapy and facilitate inhibitor surveillance. *J Thromb Haemost JTH*. junio de 2012;10(6):1055-61.
40. Klinge J, Auerswald G, Budde U, Klose H, Kreuz W, Lenk H, et al. Detection of all anti-factor VIII antibodies in haemophilia A patients by the Bethesda assay and a more sensitive immunoprecipitation assay. *Haemoph Off J World Fed Hemoph*. enero de 2001;7(1):26-32.

41. Earnshaw SR, Graham CN, McDade CL, Spears JB, Kessler CM. Factor VIII alloantibody inhibitors: cost analysis of immune tolerance induction vs. prophylaxis and on-demand with bypass treatment. *Haemoph Off J World Fed Hemoph.* mayo de 2015;21(3):310-9.
42. Farrugia A, Hermans C, Franchini M. Assessing options for treating haemophilia with inhibitors. *Haemoph Off J World Fed Hemoph.* mayo de 2015;21(3):307-9.
43. Kruse-Jarres R. Haemophilia A and inhibitors: advances in prevention and ITI treatment optimization. *Haemoph Off J World Fed Hemoph.* septiembre de 2014;20 Suppl 6:1.
44. Minno GD, Santagostino E, Pratt K, Königs C. New predictive approaches for ITI treatment. *Haemoph Off J World Fed Hemoph.* septiembre de 2014;20 Suppl 6:27.

ANEXOS

- ANEXO N°1:** CONSENTIMIENTO INFORMADO
- ANEXO N°2:** FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS
- ANEXO N°3:** PROTOCOLO PARA DETECCIÓN DE
INHIBIDORES ANTI FACTOR VIII
- ANEXO N°4:** OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

ANEXO N° 1

CONSENTIMIENTO INFORMADO

FRECUENCIA DE INHIBIDORES CONTRA FACTOR VIII EN PACIENTES CON HEMOFILIA TIPO A DEL CENTRO DE HEMOFILIA DEL “HOSPITAL NACIONAL DOS DE MAYO”. Lima-Perú 2015

El propósito de esta ficha de consentimiento es proveer, a los participantes en esta investigación, una clara explicación de la naturaleza de la misma, así como de su rol como participantes.

La investigación es realizada por Joselyn Pamela Riveros Salazar, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. La meta del estudio es determinar la frecuencia de inhibidores contra Factor VIII en pacientes con hemofilia tipo A del Centro de hemofilia del “Hospital Nacional Dos de Mayo”

La participación en el estudio es libre y voluntaria. Si usted acepta participar, se le pedirá responder una encuesta y además se le tomará una muestra sanguínea. Esto tomará aprox. 20 minutos. La información obtenida será confidencial y no se usará para ningún otro propósito fuera de la investigación. Sus respuestas al cuestionario y a la entrevista serán codificadas usando un número de identificación y por lo tanto, serán anónimas.

Si tiene alguna duda, puede consultar en cualquier momento durante su participación en él. Igualmente, puede retirarse del proyecto en cualquier momento sin que eso lo perjudique en ninguna forma. Si alguna de las preguntas durante la entrevista le parecen incómodas, tiene usted el derecho de hacérselo saber al investigador o de no responderlas.

Desde ya le agradecemos su participación.

Acepto participar voluntariamente en esta investigación, conducida por Joselyn Pamela Riveros Salazar. He sido informado de que la meta de este estudio es Determinar la frecuencia de inhibidores contra Factor VIII en pacientes con hemofilia tipo A del Centro de hemofilia del “Hospital Nacional Dos de Mayo”

Me han indicado también que tendré que responder una encuesta me tomaran una muestra sanguínea, lo cual tomará aproximadamente 20 minutos.

Reconozco que la información que yo provea en el curso de esta investigación es estrictamente confidencial y no será usada para ningún otro propósito fuera de los de este estudio sin mi consentimiento. He sido informado de que puedo hacer preguntas sobre el proyecto en cualquier momento y que puedo retirarme del mismo cuando así lo decida, sin que esto acarree perjuicio alguno para mi persona. De tener preguntas sobre mi participación en este estudio, puedo contactar a Joselyn Pamela Riveros Salazar al teléfono 994731885 o al correo electrónico pjriveros@hotmail.com.

Entiendo que una copia de esta ficha de consentimiento me será entregada, y que puedo pedir información sobre los resultados de este estudio cuando haya concluido. Para esto, puedo contactar a Joselyn Pamela Riveros Salazar al teléfono anteriormente mencionado.

Nombre del Participante

Firma del Participante

Fecha

ANEXO N° 2

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

FRECUENCIA DE INHIBIDORES CONTRA FACTOR VIII EN PACIENTES CON HEMOFILIA TIPO A DEL CENTRO DE HEMOFILIA DEL “HOSPITAL NACIONAL DOS DE MAYO”. Lima- Perú 2015

N° de Ficha:

Fecha:

Nombre y Apellidos:

Código: **Edad:** **Procedencia:**

Características Clínicas:

1. Severidad de hemofilia:

➤ **Leve:** **Moderada:** **Severa:**

2. Presencia de inhibidor:

➤ **Si:** - **Baja respuesta:** **No:**
- **Alta respuesta:**

3. Manifestaciones clínicas:

➤ **Hemartrosis:**
➤ **Hematomas y hemorragias:**
➤ **Otras manifestaciones:**

4. Tratamiento recibido de FVIII (UDS):

➤ **<1000**
➤ **1000 – 3000**
➤ **>3000**

5. ¿Ha recibido plasma fresco congelado?: Si: **No:**

6. ¿Ha recibido crioprecipitado?: Si: **No:**

7. Fecha de última dosis de FVIII:

Ficha de Resultados:

➤ **Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPa):**

➤ **Corrección de Plasma:**

- **>10:**

- **<10:**

➤ **Ensayo Bethesda:**

Muestra Problema

Control

Diluciones:

1/2

1/4

1/8

1/16

1/32

1/64

1/128

Título del inhibidor:

ANEXO N° 3

PROTOCOLO PARA DETECCIÓN DE INHIBIDORES ANTI FACTOR VIII

Paso 1. Determinación del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPa) de la muestra problema:

Se realizará la determinación del TTPa de la muestra problema mediante el equipo automatizado SIEMENS BCS® XP System.

Interpretación de resultados:

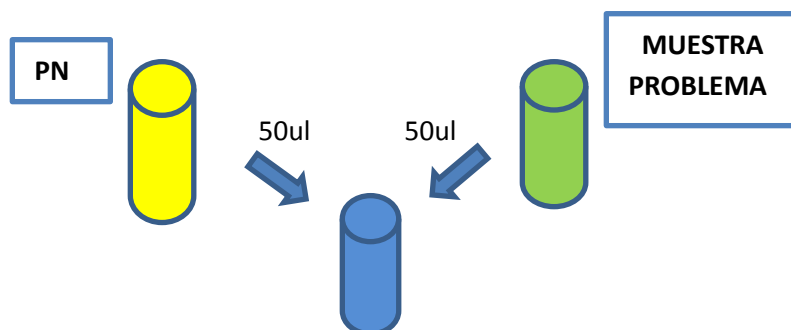
Valores de referencia del TTPa: 37.3 ± 10 seg. *

Caso 1	Valor del TTPa prolongado Mayor a 47.3 seg	Se continuará con el procedimiento para la detección y cuantificación de inhibidores <ul style="list-style-type: none">• Prueba de Mezclas• Corrección de plasma• Ensayo Bethesda-Nijmegen
Caso 2	Valor del TTPa normal	No se continuará con el procedimiento debido a que en el momento de la toma de muestra no existiría deficiencia en vía intrínseca o presencia de inhibidores.

*Referencia del Laboratorio Clínico del “Hospital Nacional Dos de Mayo”

Paso 2. Prueba de mezclas

Se realizará la prueba de mezclas con un Plasma Normal (PN) y Plasma del Paciente (Muestra problema).



- Realizar el TTPa al Plasma normal
- Colocamos 50 ul de Plasma Normal con 50 ul de Plasma del Paciente
- Realizamos la lectura inmediata de TTPa.

Interpretación de resultados:

Índice de Rosner (IR) = $\frac{\text{TTPa mezcla inmediata} - \text{TTPa Plasma normal}}{\text{TTPa Muestra problema}}$

TTPa Muestra problema

- **IR < 0,1 Corrige. Por lo tanto hay déficit de factores de la vía intrínseca.**
- **IR > 0,1 No corrige. Presencia de inhibidor y se continuara con la corrección de plasma.**

Paso 3. Corrección de Plasma:

Preparación del Pool de Plasma Normal (PPN):

- Se realizará un pool de plasma normal a partir de 20 muestras de pacientes con TTPA normal.

Procedimiento:

- Colocar los plasmas de la siguiente manera en tubos de plástico, mismo volumen y taparlos.

TUBOS	TUBO A: Normal	TUBO B: Paciente	TUBO C: Mezcla Incubada
Plasma Normal (PPN)	400 ul		200 ul
Muestra paciente		400 ul	200 ul
Tiempo y temperatura	Poner los 3 tubos en baño maría a 37°C por 1 hora		

- b. Poner los 3 tubos en baño maría a 37°C por 1 hora
- c. Realizar en tu Tubo D: La mezcla inmediata después de la incubación de 1 hora a 37°C. 200 ul de plasma control incubado + 200 ul de plasma paciente incubado.
- d. Luego realizar 4 TTPa a los tubos A, B, C, y D.

Interpretación de resultados:

Se considera que hay “Potenciación” del efecto inhibitorio tiempo-temperatura dependiente, cuando el TTPa de la mezcla incubada, se prolonga con respecto al de la mezcla inmediata.

$$\frac{\text{TTPa mezcla incubada} - \text{TTPa mezcla inmediata}}{\text{TTPa mezcla inmediata}} \times 100$$

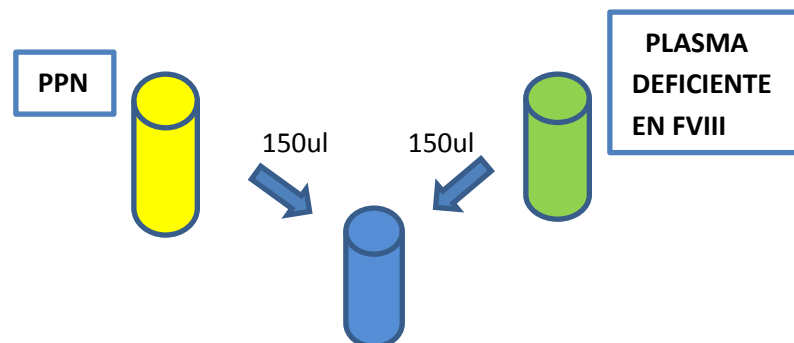
Criterio para la detección del inhibidor

>10 indica presencia de inhibidor

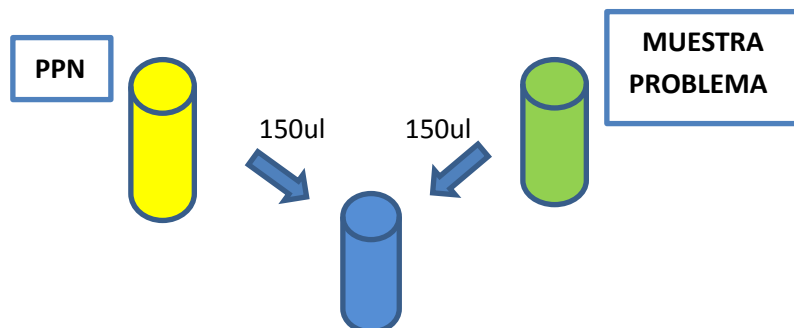
Paso 3. Ensayo Bethesda – Nijmegen: Inhibidor del Factor VIII

Procedimiento:

- a. Preparación del control:



b. Preparación de la muestra: Paciente directo



c. Preparación de diluciones del paciente: Paso 1

TUBOS	TUBO 1	TUBO 2	TUBO 3	TUBO 4	TUBO 5
DILUCIONES	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{32}$
Muestra paciente	200ul	200ul del tubo 1	200ul del tubo 2	200ul del tubo 3	200ul del tubo 4
Buffer imidazol	200ul	200ul	200ul	200ul	200ul

d. Preparación de diluciones del paciente: Paso 2

TUBOS	TUBO 6	TUBO 7	TUBO 8	TUBO 9	TUBO 10
Medir las diluciones preparadas	150ul diluc. Tubo 1	150ul diluc. Tubo 2	150ul diluc. Tubo 3	150ul diluc. Tubo 4	150ul diluc. Tubo 5
PPN	150ul	150ul	150ul	150ul	150ul

e. Tapar las diluciones preparadas (a), (b) y (d) e incubarlas durante 2 horas a 37°

f. Determinar la actividad del factor VIII en cada una de las mezclas.

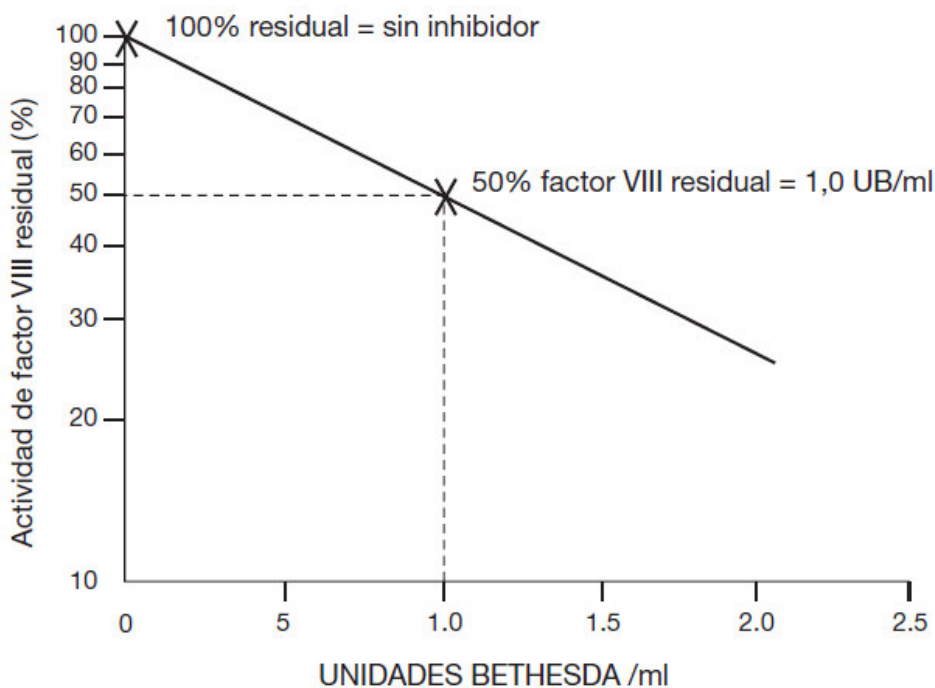
g. Calcular la cantidad de factor VIII Residual (FVIIIIR) en cada una de las mezclas.

- h. Seleccionar aquellas mezclas que dejen aproximadamente 50% de FVIIIIR; con el valor de FVIIIIR estimar las UB/ml correspondientes para cada mezcla en la curva teórica.

Paso 4. Cálculo del Factor Residual VIII (FRVIII)

Para calcular el inhibidor se elegirá la dilución de plasma de prueba que da un factor VIII residual lo más cercano al 50% pero dentro del rango de 30% a 60%. Se graficará en una hoja para escalas logarítmicas dobles el % de factor VIII residual versus las unidades de inhibidores (figura 4).

Figura 4: Relación entre el factor VIII residual y el título del inhibidor



Fuente: Federación Mundial de Hemofilia – Diagnóstico y tratamiento de inhibidores

$$\text{VIII RESIDUAL} = \frac{\% \text{ FVIII del Paciente directo} \times 100}{\% \text{ FVIII del control}}$$

- El valor obtenido se interpolará en la gráfica. Si los datos caen dentro del intervalo de 30% a 60% para obtener las unidades Bethesda, el dato obtenido se multiplicará por la dilución en la que se obtuvo el dato del FVIII.
- Se leerá el nivel del inhibidor correspondiente al FVIII residual para cada mezcla de prueba y corregir la dilución.

Interpretación de resultados

- NEGATIVO : < 0.6 UB/ml
- ALTO TÍTULO : > 5.0 UB/ml
- BAJO TÍTULO : < 5.0 UB/ml

Observaciones

- ❖ En caso de dilución tener presente que las unidades Bethesda obtenidas se multiplicaran por la dilución.
- ❖ Para calcular el nivel del inhibidor no se debe utilizar ningún factor VIII residual de <25% o >75%.
- ❖ No se deben realizar menos de 3 diluciones.

ANEXO N°4

OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Dimensión	Definición conceptual de la dimensión	Naturaleza y escala	Indicador	Unidades	Valores Establecidos	Instrumento de recolección
Frecuencia de Inhibidores contra FVIII	Detección de anticuerpos que inhiben o bloquean al FVIII:C dentro de la cascada de coagulación.	Pruebas de tamizaje	Prueba para evaluar a una población con riesgo a padecer una enfermedad.	Cuantitativa de razón	Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPA)	Tiempo en segundos	27.3 – 37.3 seg*	Ficha de Recolección de Datos
		Corrección de plasma	Prueba que pone en evidencia a inhibidores de tiempo y temperatura dependientes	Cuantitativa de razón	TTPa Corrección de plasma	$\frac{TTPa\ incub - TTPa\ inm}{TTPa\ inm} \times 100$	>10.0 indica presencia de inhibidor	Ficha de Recolección de Datos
		Pruebas confirmatorias	Prueba de laboratorio que confirma la sospecha diagnóstica como positivo o negativo a una enfermedad.	Cuantitativa de razón	Método Bethesda	Unidad Bethesda (UB)	Negativo: <0.6 UB/m Alto título: > 5.0 UB/ml Bajo título: 5.0 UB/ml	Ficha de Recolección de Datos
Pacientes con diagnóstico de Hemofilia tipo A	Personas que han sido diagnosticadas con un trastorno hemorrágico, debido a alguna alteración en el FVIII.	Clasificación de hemofilia tipo A	Gravedad de Hemofilia según concentración de FVIII	Cualitativa ordinal	Ficha de Recolección de datos/ Historia Clínica	Unidades Internacionales por decilitro (UI/dl)	Leve: < 1 UI/dl Moderada: 1 - 5 UI/dl Severa: 5 - 40 UI/ dl	Ficha de Recolección de datos/ Historia Clínica

*Referencia del Laboratorio Clínico del "Hospital Nacional Dos de Mayo.